

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Katedra antropologie a genetiky člověka



Bakalářská práce

Trichologický materiál ve forenzní praxi

Jana Siegelová

Praha 2009

Školitel: RNDr. Blanka Vacková, CSc.

Poděkování:

Ráda bych poděkovala své školitelce RNDr. Blance Vackové, CSc. za cenné rady a připomínky, které mi poskytla při psaní této práce a také RNDr. Haně Eliášové, Ph.D. za poskytnutou literaturu a odborné připomínky. Poděkování patří také mým nejbližším, kteří mě při psaní podporovali.

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracovala samostatně s použitím uvedené literatury.

V Praze dne 5.8.2009.

Jana Siegelová
.....
Podpis

Abstrakt:

Vlasy a chlupy často nacházíme v souvislosti s ohledáním místa činu. Úkolem vyšetřovatelů je zjistit jejich zdroj. K tomu se využívá analýza trichologického materiálu. Je možné popsat většinu typů chlupů, ale nejčastěji jsou analyzovány vlasy a pubické ochlupení.

Práce „Trichologický materiál ve forenzní praxi“ se v první části zabývá stavbou a růstem lidského vlasu, rozdělením lidských chlupů a zmiňuje se také o zvířecích chlupech. Druhá, hlavní část, je zaměřena na využití a význam lidských vlasů, ale i zvířecích chlupů ve forenzní praxi. Je zde také popsán způsob analýzy vlasu z morfologického hlediska i z hlediska analýzy DNA.

Klíčová slova: vlas, chlup, analýza, mitochondriální DNA, nukleární DNA

Abstract:

Hairs are often found associated with crime scene. Determination of the source of a hair is a mission of the investigators. Analysis of trichological material leads to this. A description of all types of hair is possible, but head and pubic hairs are the most analysed.

The first part of „The trichological material in forensic practice“ introduce structure and growth of hair. It introduce also division of hair and it mentions animal hairs too. The second main part of this work introduce utilisation and signification of human and animals hairs in forensic practice. There is descripton of hair morfological analysis and analysis of DNA.

Key words: hair, analysis, mitochondrial DNA, nuclear DNA

Obsah:

1 Úvod	5
2 Cíl práce	5
3 Historie forezní biologie	6
4 Trichologický materiál	6
4.1 Lidské vlasy a chlupy – stavba a růst	6
4.1.1 <i>Růst vlasu a vlasový folikul</i>	7
4.1.2 <i>Makroskopická stavba</i>	8
4.1.3 <i>Mikroskopická stavba</i>	10
4.2 Rozdělení lidského trichologického materiálu	12
4.2.1 <i>Primární ochlupení</i>	12
4.2.2 <i>Sekundární ochlupení</i>	12
4.2.2.1 Chloupky (pili)	12
4.2.2.2 Řasy (cilia)	12
4.2.2.3 Obočí (supercilium)	13
4.2.2.4 Vlasy (capili)	13
4.2.3 <i>Terciární (terminální) ochlupení</i>	14
4.2.3.1 Celkové terminální ochlupení	14
4.2.3.2 Lokální terminální ochlupení	14
4.3 Zvířecí chlupy – stavba a rozdělení	15
5 Forezní využití trichologického materiálu	16
5.1 Morfologické zkoumání vlasu	16
5.1.1 <i>Metodika zkoumání</i>	17
5.1.2 <i>Určení druhové příslušnosti</i>	18
5.1.3 <i>Analýza živočišného chlupu</i>	19
5.1.4 <i>Analýza lidského chlupu / vlasu</i>	20
5.2 Forezní využití DNA	23
5.2.1 <i>Jaderná DNA</i>	24
5.2.2 <i>Mitochondriální DNA</i>	25
5.2.3 <i>Analýza DNA</i>	26
6 Závěr	28
Seznam zkratk a pojmů	29
Seznam použité literatury a zdrojů	30

1 Úvod

Forenzní vědy zaujímají v dnešním světě velice významné místo a vzhledem k jejich popularizaci jsou čím dál více diskutovaným tématem. Jednou z těchto věd je také forenzní biologie, která je hojně využívána v procesu identifikace jedince a zabývá se biologickým materiálem, včetně materiálu trichologického.

Identifikace je definována jako rozpoznání podobností nebo shodných znaků mezi událostmi, objekty nebo osobami (Chrobáková a kol., 1999).

Forenzní biologie je aplikovaná biologická věda, která slouží k vyhledávání, zjišťování, zkoumání a vyhodnocování biologických stop lidského, zvířecího nebo rostlinného původu (Policie ČR, 2008; Protivínský, Klvaňa, 2007; Musil a kol., 2004).

Tato práce je zaměřena na využití trichologického materiálu ve forenzní (kriminalistické) praxi. Za trichologický materiál jsou ve forenzním vyšetřování považovány lidské vlasy a ostatní ochlupení a také zvířecí chlupy. Vzhledem k požadovanému rozsahu se práce zabývá především materiálem lidského původu.

Trichologický materiál je frekventovaným typem biologické stopy, kterou kriminalisté nachází v souvislosti s místem činu. Pro účely kriminalistiky je využíván nejen k identifikaci pachatelů. Stává se také důkazem při hledání pohřešovaných osob, může být důležitý pro odlišení jednovaječných dvojčat a při vyjasňování příbuzenských vztahů. Vlasy se zachovávají mnohem delší dobu než měkké tkáně, až stovky let, takže po kosterních nálezích jsou jedním z důležitých materiálů ke zkoumání. V neposlední řadě můžeme analýzou vlasu dokázat užívání drog, dále pak kontakt s jinými chemickými látkami. Analýza trichologického materiálu, z hlediska struktury nebo získání DNA, je ve forenzní praxi stěžejní a zaujímá velkou část této práce.

2 Cíl práce

Cíle mé bakalářské práce jsou popsat živočišný trichologický materiál, jeho vznik, stavbu a rozdělení. Dále zmapovat různé způsoby jeho využití pro kriminalistické účely.

3 Historie forenzní biologie

Forenzní biologie, do které spadá i trichologie, je poměrně mladým odvětvím forenzních věd. Za počátek kriminalistického zkoumání je považován rok 1901, ve kterém německý lékař, Paul Uhlenhuth, poprvé úspěšně odlišil lidskou a zvířecí krev (Suchánek, 2005; Musil, Konrád, Suchánek, 2004). Kriminalistická biologie se ale pomalu vyvíjela již před tímto objevem. Její vývoj lze spojovat se soudním lékařstvím. Z historie je známa řada metod, které se používaly pro určení příčiny smrti a zjištění mechanismu poranění, ale z hlediska kriminalistiky byly významné především práce zabývající se prokázáním biologických materiálů nalezených na místě činu (Musil, Konrád, Suchánek, 2004).

V současnosti je, dle mého názoru, velice důležitou a přesnou formou forenzního zkoumání analýza deoxyribonukleové kyseliny (DNA), která může být za určitých okolností získána i z trichologického materiálu.

4 Trichologický materiál

Trichologický materiál je ve forenzní praxi souhrnný název pro zvířecí chlupy a lidské ochlupení.

Chlupy, mezi které patří i vlasy, jsou typickým znakem savců (Grollman, 1978; Valković, 1988; Camacho et al., 2000; Gaisler, Zima, 2007; Schneider, 2009). Jsou epidermálního původu a během fylogenetického vývoje vznikly jako sensorické útvary mezi šupinami některých ještěřů (Roček, 2002). Původní funkce pokryvu těla byla ochranná, sensorická a zejména termoregulační, ale u člověka ochlupení a vlasy tuto funkci ztratily (Valković, 1988; Fetter a kol., 1967). Funkce vlasů a ochlupení je v současnosti sexuální a sociální, ale fungují také jako senzitivní receptor (Camacho et al., 2000).

4.1 Lidské vlasy a chlupy – stavba a růst

Lidské vlasy se skládají z 65–95 % z proteinů, zbytek tvoří voda, lipidy, pigment a stopové prvky (Robbins, 1988). Jsou z velké části vytvářeny mrtvými buňkami – keratinocyty, které produkují keratin (Schneider et al., 2009). Vlasy vyrůstají z vychlípenin epidermis, označovaných vlasové folikuly (Arenberger, 2002; Čihák, 1997).

4.1.1 Růst vlasu a vlasový folikul

Základy vlasových folikulů se začínají vytvářet v devátém týdnu intrauterinního vývoje v oblasti horního rtu, obočí a brady. Ve čtvrtém embryonálním měsíci se vyvíjí další primární folikulární zárodky, které jsou rozloženy po celém těle. V blízkosti primárního folikulárního zárodku se vyvíjí dva další folikuly. Toto uspořádání je typické pro člověka a ostatní savce. Se zvětšujícím se povrchem se v okolí primárních zárodků objevují satelitní sekundární folikuly, u člověka méně než u savců s hrubou srstí (Bartošová, 1982).

Z vlasového folikulu vzniká proliferací buněk primitivní vlasový zárodek, který se rychle mění na vlasový zárodek s vysokými buňkami s protáhlým jádrem, ty se formují do symetrického útvaru. Vlasový zárodek se od okolní epidermis liší ztrátou glykogenu a zvýšením syntézy ribonukleové kyseliny. Proliferací buněk do mezenchymu se ze zárodku stává vlasový čep, což je sloupek epiteliálních buněk, vespod radiálně uspořádaný. Z těchto buněk se později vytváří matrix folikulu. K vlasovému čepu přiléhá zárodek dermální papily, tvořený shlukem mezodermálních buněk. Nejhlubší část folikulu se rozšiřuje v bulbus s výdutí. Toto období se nazývá období bulbárního čepu. Z cylindricky nahromaděných buněk matrix vzniká sloupek buněk, které později vytváří vlas. Když embryonální folikul dosáhne definitivní délky, zvýší se mitotická aktivita buněk uložených v dolní části bulbu a diferenciací buněk je produkován vlas (Bartošová, 1982).

Spodní část folikulu tvoří bulbus nasedající na dermální papilu. Uprostřed folikulu se nachází vlas, obklopený vnitřní epiteliální pochvou, která končí při ústí mazové žlázy. Kolem této pochvy jsou koncentricky uspořádány další části folikulu, jsou to Huxleyova vrstva, Henleova vrstva, zevní epiteliální pochva, membrana vitrea a horizontálně a vertikálně uspořádané fibrily vazivové pochvy (Bartošová, 1982; Arenberger, 2002).

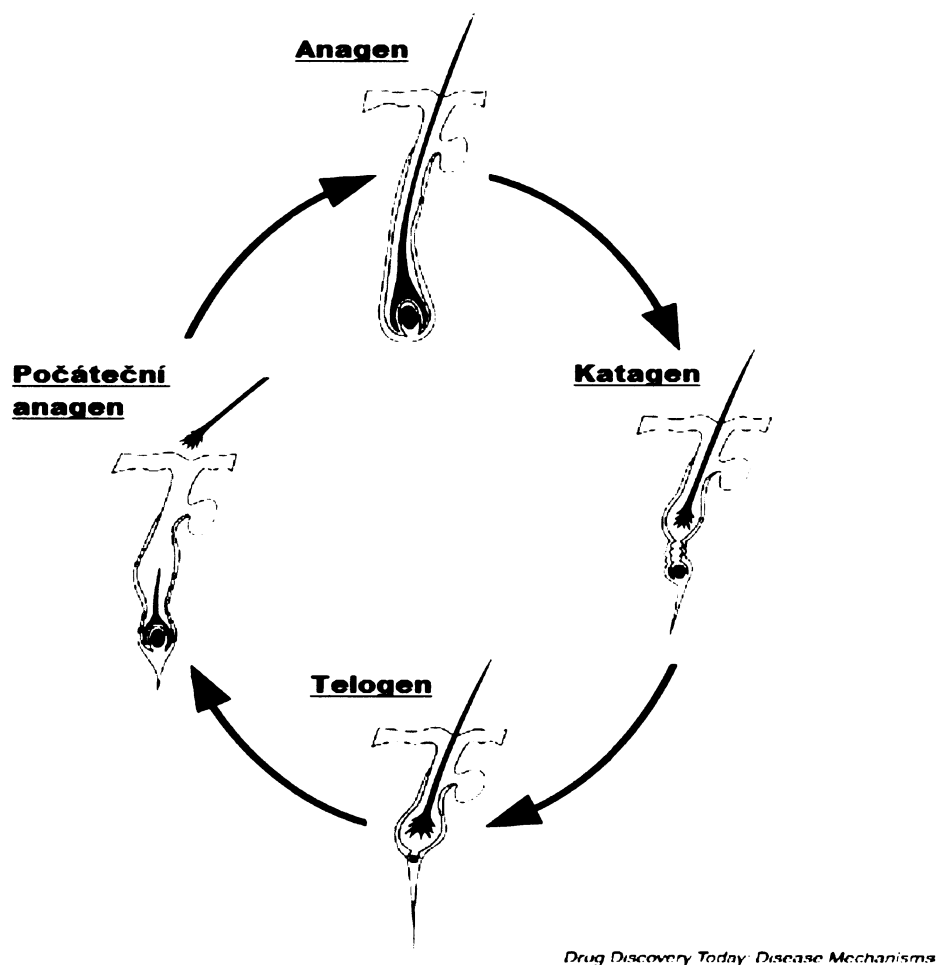
Růst vlasů je cyklický a nepravidelný. Prochází fází růstu (anagen), involuce (katagen) a klidu (telogen). Vlasová výměna u lidí je asynchronní, jednotlivé vlasy jsou tedy v jednom okamžiku v různých fázích cyklu. Tato asynchronní výměna nastupuje během několika měsíců po narození, do té doby je růst vlasů synchronní (Arenberger, 2002).

Anagenní vlas má silný stvol, dobře viditelnou dřeň a v proximální části folikulu viditelnou mitoticky aktivní matrix s pigmentem. V distální části je tmavá keratogenní zóna. Trvání anagenní fáze se liší podle druhu, oblasti těla a věku (např. anagen terminálního vlasu trvá 3-7 let). Po růstové fázi nastupuje katagenní fáze. V ní dochází k involuci dolních 2/3 vlasového folikulu, horní 1/3 zůstává téměř nezměněna. Tato fáze trvá přibližně dva týdny a je vystřídána klidovou fází – telogenem, která trvá asi 3 měsíce. Telogenní vlas je tenčí, bez dřene a folikul bez keratogenní zóny, bulbus je zrohovatělý, kyjovitého tvaru a obsahuje jen

malé množství pigmentu (Arenberger, 2002). V telogenu existuje pouze horní třetina folikulu a vlas se připravuje k vypadnutí. Ve folikulu jsou zachovány nediferencované zbytky tkáně, které jsou schopné nové proliferace (Bartošová, 1982). Cyklus vývoje folikulu a produkce vlasu se opakuje (viz Obr. 1).

Různá onemocnění vlasu mohou zapříčinit změny v hustotě a velikosti vlasových folikulů a změny ve vlasovém cyklu (McElwee, Sinclair, 2008).

Obr. 1: Vlasový cyklus (převzato a upraveno z McElwee, Sinclair, 2008)



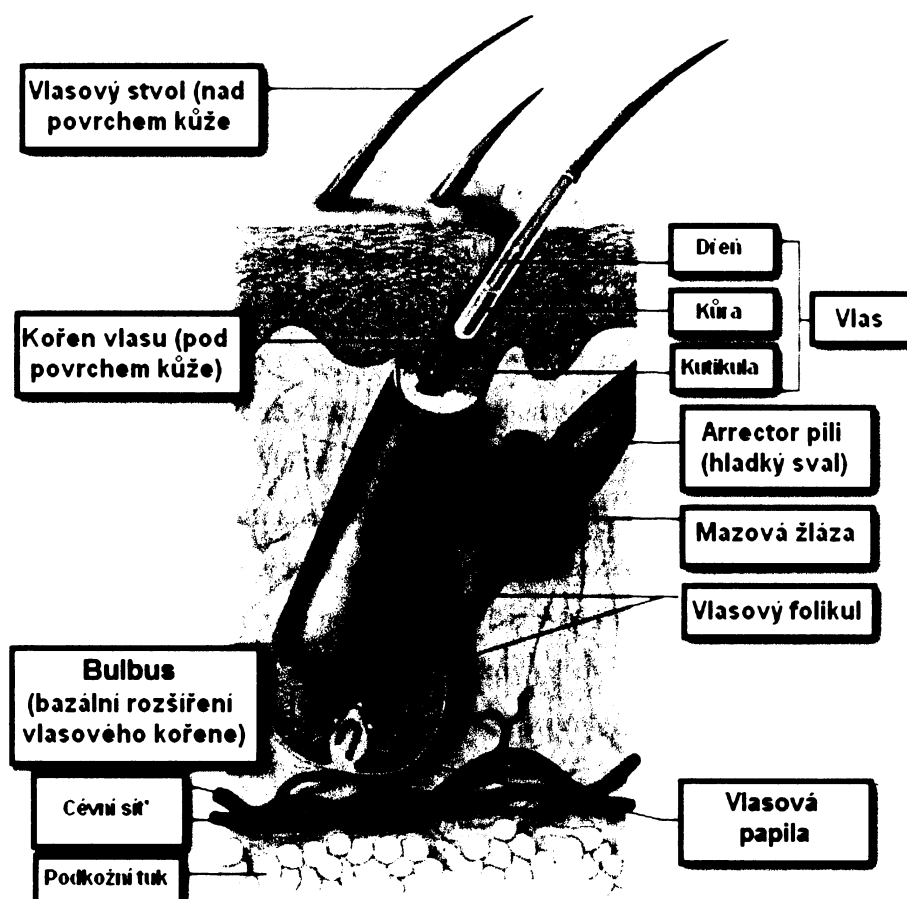
4.1.2 Makroskopická stavba

Z makroskopického pohledu se vlas dělí na kořen vlasu a vlasový stvol (viz Obr. 2). Kořen vlasu je část vlasu uložená pod kůží (Deedrick, Koch, 2004; Čihák, 1997). Je zanořen do prohlubně epidermis, označované jako vlasová pochva (Čihák, 1997). Tvoří ho paličkovitá

vlasová cibulka (bulbus), na jejímž konci je výduť, kterou vlas nasedá na vlasovou papilu, což je výběžek škáry sloužící k výživě (Fetter a kol., 1967; Čihák, 1997). Vlasová cibulka je část vlasu, jejíž buňky obsahují jádra a keratinizace se neprojevuje po celé její délce (Fetter a kol., 1967).

Vlasový stvol vyčnívá z kůže a má podobu větene, vzhledem k délce se nám ale jeví jako dlouhý válec. Vřetenovitá podoba je dobře rozpoznatelná např. na řasách nebo obočí (Fetter, 1967). Vlasový stvol je po celé délce stejně silný, až na konci se ztenčuje a tvoří špičku vlasu. U novorozenců nebo nově se tvořících vlasů je konec špičatý, většinou je ale konec vlasu pozmeněn vlivem vnějších podmínek (Čihák, 1997; Fetter a kol., 1967).

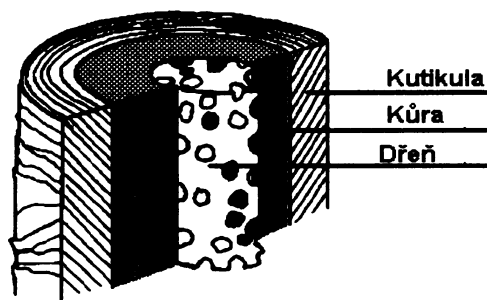
Obr. 2: Stavba a uložení chlupu (převzato a upraveno z Seeley et al, 2007)



4.1.3 Mikroskopická stavba

Z pohledu mikroskopického můžeme na vlasu rozlišit kutikulu, kůru a dřeň (viz Obr. 3, 5).

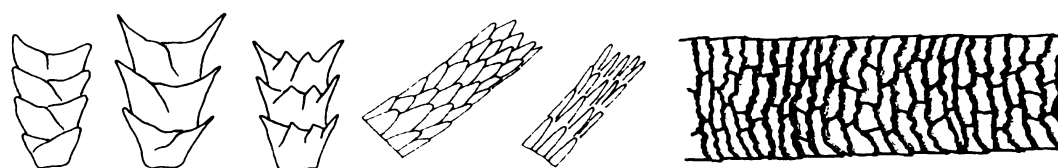
Obr. 3: Mikroskopická stavba vlasu (převzato a upraveno z www.top-hair-loss-remedy.com, 2009)



Kutikula (cuticula pili) je vnější vrstva pokrývající vlasový stvol. Během vývoje keratinizuje. Proces keratinizace, proteinové syntézy, probíhá v bulbárních keratinocytech. Makromolekula keratinu může obsahovat více než sto různých proteinů, velký význam má cystein, což je aminokyselina, která vytváří stabilní disulfidické vazby mezi molekulami keratinu. Keratin tvoří 90–99 % suché váhy vlasu (Bartošová 1982).

Kutikula je složena z plochých, zrohovatělých, nepigmentovaných buněk bez jádra. Tyto buňky jsou zakřiveny podle obvodu vlasu. Jsou uspořádány taškovitě tak, že jejich volný konec směřuje k distální části vlasu. Volné okraje buněk jsou jemně zoubkované, pouze nově vyrůstající části vlasu mají kutikulu nezoubkovanou (Deedrick, Koch, 2004; Fetter a kol., 1967; Valkovič, 1988). Buňky tvořící kutikulu mohou být několika druhů, např. korunovitě, lístkovitě a šupinovitě (viz Obr. 4). Korunovité buňky se nachází u hlodavců a netopýřů, vzácně i u lidí. Lístkovité buňky jsou čistě zvířecí, u lidí nebyly nikdy nalezeny. Šupinovitě buňky jsou běžné na lidských vlasech, ale často je také nacházíme na srsti zvířat (Deedrick, Koch, 2004).

Obr. 4: Korunovitá, lístkovitá a šupinovitá kutikula (Deedrick, Koch, 2004)



Kůra vlasu (*substantia corticalis*) obsahuje podélně položené, keratinizující, větvenovité buňky. V buňkách kůry se nachází pigmentová granula, mohou také obsahovat vzduchové vakuoly (Deedrick, Koch, 2004; Fetter a kol., 1967; Valkovič, 1988).

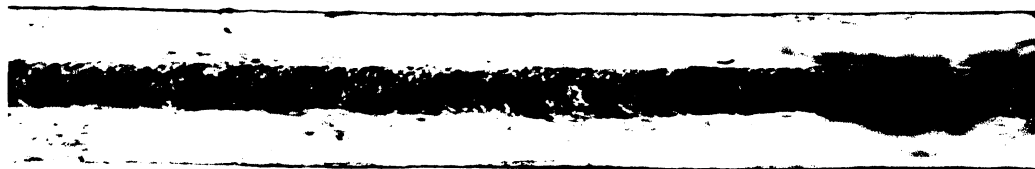
Vzduchové vakuoly, pozorovatelné v některých vlasech, mají nepravidelný tvar a různé velikosti. Ve folikulární části jsou tyto komůrky vyplněny tekutinou. Obvykle se nacházejí v blízkosti kořene zralého lidského vlasu, ale mohou být rozprostřeny po celé délce vlasu (Deedrick, Koch, 2004; Valkovič, 1988).

Pigmentová granula ve vlasové kůře mohou být různě umístěna a mohou mít různé barvy. U člověka se pigmentová granula nachází nejčastěji blízko kutikuly, s výjimkou rutilních vlasů. Naproti tomu u zvířat se pigmentová zrna nachází spíše v blízkosti vlasové dřeně (Deedrick, Koch, 2004). Pigment vlasu vzniká v melanocytech, které syntetizují eumelanin (černý pigment) nebo feomelanin (žlutý pigment), ty pak transportují do keratinocytů kůry a dřeně vlasu. V embryonálním vývoji jsou melanocyty uloženy kromě bulbu i v jiných částech folikulu, ve kterých se po narození nevyskytují. V anagenním folikulu se melanocyty nachází mezi keratinocyty v bulbu nad papilou a svými dendritickými výběžky zasahují do mezibuněčných prostor. Těmito výběžky jsou pigmenty transportovány do keratinocytů. Výsledná barva závisí na množství transportovaných pigmentů a na jejich rozložení v kůře a dřeni vlasu (Bartošová, 1982).

Dřeň vlasu (*medulla pili*) je tvořena velkými, obvykle pigmentovanými buňkami, s velkými vakuolami. Spojení buněk je volné, jsou zřetelné intercelulární prostory. Buňky dřeně nejsou keratinizované (Bartošová, 1982). Dřeň může probíhat souvisle celým vlasem, může být přerušována nebo může zcela chybět. Tloušťka dřeně u lidských vlasů obvykle nepřesahuje 1/3 průměru vlasu (Fetter a kol., 1967; Valkovič, 1988).

Mikroskopická stavba vlasu, může být u různých jedinců odlišná a je tak výborným předmětem forenzního zkoumání (viz kapitola 5).

Obr. 5: Mikrofotografie vlasového stvolu lidského vlasu (www.geradts.com, 2009)



4.2 Rozdělení lidského trichologického materiálu

Lidské chlupy můžeme rozdělit do tří skupin, a to na ochlupení primární, do kterého spadá lanugo a na ochlupení sekundární, kam patří chloupky, vlasy, řasy a obočí. Poslední skupinou je ochlupení terciární, do kterého zařazujeme zejména axilární ochlupení, pubické ochlupení a vousy.

4.2.1 Primární ochlupení

Primární ochlupení, neboli lanugo, jsou velmi jemné, světlé chloupky s délkou 0,1–1,0 cm, dosahující tloušťky 14–27 μm . Narůstají ve fetálním období, od 4. fetálního měsíce (Fox, 1991; Čihák, 1997; Klementa a kol., 1981; Fetter a kol., 1967). Lanugo se vytváří nejdříve na čele (Čihák, 1997). Nejvíce vyvinuto je primární ochlupení mezi 7. a 8. měsícem fetálního vývoje, v této době je jím pokryto celé tělo, kromě dlaní, chodidel, posledních článků prstů, rtů, očních víček, prsních bradavek a zevních pohlavních orgánů (Čihák, 1997; Fetter a kol., 1967). Po období masivního rozvoje začíná lanugo opadávat do plodové vody, a protože je částečně spolýkáno plodem, objevuje se i v první stolici dítěte, tzv. smolce (Fetter a kol., 1967; Klementa a kol., 1981; Čihák, 1997). Lanugo na těle tvoří proudy a víry. Toto orientované rozložení je dáno tím, že všechny chlupy z pokožky vyrůstají pod úhlem a v řadách, které tvoří proudy. Tyto řady a proudy mají svůj definovaný začátek, proto z nich následně mohou vznikat proudy a víry (Jones, 2001, cit. v Gworys, Domagala, 2003). Proudny a víry se zachovávají i v sekundárním ochlupení.

4.2.2 Sekundární ochlupení

Sekundární ochlupení je typické pro postnatální období, ale nastupuje ještě ve fetálním období, po lanugu. Tento typ ochlupení se dále dělí podle lokalizace na těle (Čihák, 1997; Fetter a kol., 1967). Základní dělení je na chloupky, vlasy, řasy a obočí.

4.2.2.1 Chloupky (pili)

Chloupky jsou rozptýleny po celém těle, s výjimkou míst, kde nebylo ani lanugo (Čihák, 1997; Fetter a kol., 1967). Jejich délka je 3–60 mm, mají tenký dlouhý konec a jejich dřeň je nepravidelně rozmístěna (Valkovič, 1988).

4.2.2.2 Řasy (cilia)

Řasy jsou kratší tužší chloupky, které vyrůstají z okrajů očních víček ve třech a více řadách, jejich volné konce jsou však uspořádány v jedné řadě. Tento typ ochlupení má ochrannou funkci, zabraňuje pádu nečistot do oka. Řasy bývají z celého ochlupení jedince nejtmaší a skoro nikdy nešediví (Čihák, 1997; Fetter a kol., 1967). Jejich průměrná délka je

1 cm a průměrná šířka mezi 20–120 μm (Bartošová a kol., 1982). Mají hrubý povrch a bývají obloukovitě prohnuté (Valkovič, 1988; Bartošová a kol., 1982). Na horním víčku je mezi 150 až 200 řasami, na spodním víčku přibližně o 100 méně. V průměru nám denně vypadne jedna řasa a je nahrazena novou (Čihák, 1997; Fetter a kol., 1967).

4.2.2.3 Obočí (supercilium)

Obočí má stejně jako řasy délku přibližně 1 cm a hrubý povrch (Valkovič, 1988). Je umístěno nad horním okrajem oční do tvaru oblouku, jeho polohu ale můžeme změnit pomocí mimických svalů. Směr růstu chloupků je laterální, pouze na vnitřní straně směřují nahoru. Obočí se objevuje ze všech sekundárních chloupků nejdříve, již v prenatálním období. Po 40. roce, především u mužů mohutní a objevují se jednotlivá dlouhá supercilia, která odpovídají sinusovým chlupům nižších savců. Obočí šediví vždy dříve než řasy, ale později než vlasy a ostatní ochlupení (Čihák, 1997; Fetter a kol., 1967).

4.2.2.4 Vlasy (capilli)

Vlasy tvoří povrch hlavy, začínají ostrou hranicí nad čelem. Na šíji, přibližně v místě druhého krčního obrátle přecházejí v chloupky krku (Čihák, 1997; Fetter a kol., 1967). Ve spánkové oblasti je hranice růstu neostrá, naopak okolo ušního boltce je hranice růstu vlasů ostrá. V zadní části parietální krajiny se většinou tvoří vlasový vír, od kterého se vlasy rozbíhají všemi směry (Čihák, 1997). Tloušťka vlasů není stejná, liší se podle umístění, typu vlasu i pohlaví, uvádí se však rozmezí 42–95 μm . Počet vlasů je asi 180–320 na 1 cm^2 , přičemž průměrný počet vlasů černé a hnědé barvy bývá 80–100 tisíc, zatímco vlasů světlé barvy bývá o 1/3 více. Vlasy rostou rychlostí 0,30–0,45 mm za den a jejich životnost je mezi 2–8 roky. Denní ztráta je u člověka 13–90 vlasů (Čihák, 1997; Fetter a kol., 1967). Lidský vlas má poměrně malý kořen, zužující se konec a obvykle je v jeho středu přítomna dřevina.

Podle tvaru průřezu rozlišujeme 3 základní typy vlasů. Vlasy rovné mají kulatý průřez, vyrůstají pod úhlem z rovných vlasových pochev a mohou dorůst značné délky. Vlasy vlnité mají mírně oválný průřez a stejně jako předchozí typ vyrůstají z rovných pochev a dosahují velké délky. Kudrnaté vlasy jsou na průřezu oválné až ledvinovité a vyrůstají ze zahnutých pochev. Tyto tři typy vlasů se vyskytují u evropských populací, nejčastější jsou první dva typy. Třetí typ převažuje u černošského etnika. Vlasy rovné jsou charakteristické pro mongoloidní etnikum (Bartošová a kol., 1982; Čihák, 1997). U neevropských populací se setkáváme s dalšími dvěma typy vlasů. Typ fil-fil má ledvinovitý průřez a stejný tvar jako vlasy kudrnaté, roste ze zahnutých pochev, někdy v chomáčcích. Další neevropský typ vlasů je spirálovitý.

Tento vlas má oválný průřez, roste ze zahnutých pochev a vyznačuje se především dutinou nahrazující dřeň vlasu (Čihák, 1997).

4.2.3 Terciární (terminální) ochlupení

Terminální ochlupení je dáváno do souvislosti s intersexuálními rozdíly. U žen produkuje pouze 35 % folikulů terminální, pigmentovaný chlup a ochlupení trupu a končetin je nenápadné. U mužů produkuje terminální typ ochlupení 90 % folikulů (Bartošová a kol., 1982).

4.2.3.1 Celkové terminální ochlupení

Celkové terminální ochlupení se začíná objevovat v období puberty a souvisí s pohlavní zralostí organismu. Je tvořeno silnějšími, delšími a tmavšími chlupy než ochlupení sekundární. Jeho růst závisí na činnosti žláz s vnitřní sekrecí, především na produkci testosteronu a také na produkci buněčných receptorů na testosteron. Toto ochlupení se začíná objevovat na typických místech těla, později na celém těle. U mužů je typické v oblasti sterna, nad prsními bradavkami, na břicho a končetinách. U žen se terciární ochlupení nachází v dolní části stehen, na bérkách, ojediněle kolem areola mammae a na sternu. Boční části břicha a hýždí jsou u obou pohlaví bez ochlupení (Čihák, 1997; Fetter a kol., 1967).

4.2.3.2 Lokální terminální ochlupení

Lokální terminální ochlupení jsou chlupy v podpaží (hirci), pubické ochlupení (pubes seu crines), dále do této skupiny patří vous (barba), tragi, sinusové chlupy a vibrisae.

Chlupy v podpaží (axilární ochlupení) se objevují v období puberty, bývají zvlněné a jsou spojeny s podpažními potními žlázami (Čihák, 1997). Jejich průřez je ledvinovitý nebo eliptický. Stvolý jsou charakteristicky zkroucené nebo stočené podél dlouhé osy. Dorůstají délky 10–60 mm (Bartošová, 1982).

Pubické ochlupení je velmi silné a často spirálovitě stočené (Čihák, 1997). Toto ochlupení je plně vyvinuto v pubertě a jeho tvar je rozdílný mezi pohlavími, ostrá hranice na mons pubis u žen a neostrá u mužů je sekundárním pohlavním znakem (Fetter a kol., 1967).

Vous je charakteristický pro muže. Je to nejsilnější chlup na celém těle a objevuje se později než pubické ochlupení a ochlupení podpaží. Vousy pokrývají okraje rtů, bradu, tvář a přesahují až na krk (Čihák, 1997; Fetter a kol., 1967).

Tragi jsou silné chlupy u vchodu zevního zvukovodu, jsou nápadnější u mužů než u žen a zvětšují se s přibývajícím věkem (Čihák, 1997; Fetter a kol., 1967).

Silnější, krátké chloupky v nosním vchodu se nazývají vibrisae, vyrůstají až po pubertě a slouží k zachycování vdechovaného prachu (Čihák, 1997; Fetter a kol., 1967).

Sinusové chlupy jsou pozůstatkem fylogenetického vývoje. Jsou to silné, tvrdé a poměrně dlouhé samostatně vyrůstající chlupy. Začínají vyrůstat po 40. roce na tváři, v obočí i nad ním, nad zápěstím i na ulnárním okraji předloktí a to převážně u mužů. V okolí jejich růstu se často tvoří pigmentovaná, lehce vystouplá místa. Tyto chlupy jsou pozůstatkem hmatových chlupů nižších savců (Čihák, 1997; Fetter a kol., 1967).

4.3 Zvířecí chlupy – stavba a rozdělení

Zvířecí chlup na rozdíl od lidského nemá podobu vřetene. Jeho síla se průběhem celé délky mění. Chlupy některých zvířat mají na svém konci osinu, jiná zvířata mohou mít zúžení nad kořenem nebo měnicí se tloušťku během celé délky vlasu. Změna síly chlupu je dobrým identifikačním prostředkem k určení druhu (Fetter a kol., 1967).

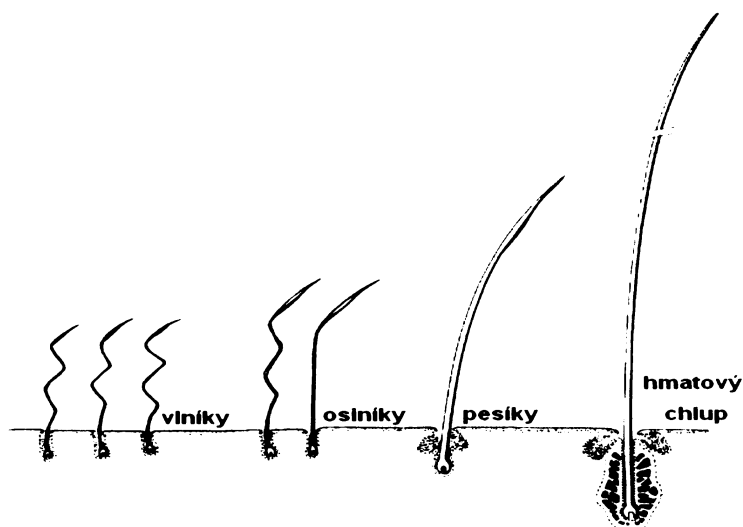
U zvířecí srsti rozeznáváme tři základní typy chlupů. Jsou to vlníky, osiníky a pesíky (viz Obr. 6). Vlníky a osiníky tvoří podsadu, která má především izolační význam, slouží k udržení stálé tělesné teploty (Gaisler, Zima, 2007). Podsada bývá zvlněná, jemná a ohebná. Jsou to nejkratší chlupy, se kterými se na těle zvířat setkáváme. Existuje několik málo druhů, které podsadu nemají. Tyto chlupy jsou na zvířeti nejčastěji zastoupeny, ale často nemají charakteristické znaky k určení druhu.

Dalším typem chlupů jsou pesíky, které se významně podílejí na zbarvení srsti (Gaisler, Zima, 2007). Jsou delší než podsada a jejich struktura i zbarvení jsou pro identifikaci nejdůležitější. Také často mívají osinu. Na pesíkách se nejvíce projevují charakteristické vlastnosti chlupu určitého zvířete (Fetter a kol., 1967).

U živorodých savců se dále setkáváme s hmatovými (sinusovými) chlupy, čili vibrisy. Jsou to specializované chlupy, nacházející se převážně na hlavě. Jsou stejně silné, přímé nebo lehce zahnuté a bývají na těle nejdelší. Další specializované chlupy, které lze na zvířecím těle nalézt, jsou například oční brvy, vlasiny (žíně) nebo štětiny, což jsou vlastně ztloustlé pesíky (Gaisler, Zima, 2007).

Zvířecí chlupy se stejně jako lidské vlasy skládají z kutikuly, kůry a dřene.

Obr. 6: Typy chlupů zvířat (převzato a upraveno z Gaisler, Zima, 2007)



5 Forezní využití trichologického materiálu

Ve většině rozvinutých zemí jsou vědecké důkazy trichologického původu zahrnuty do soudních jednání. Tyto důkazy snižují důležitost očítých svědectví a díky vědeckým důkazům nejsou vyšetřovatelé odkázáni na doznání obžalovaných (Rowe, 2001). Důkazy jsou získávány a analyzovány při forezním zkoumání v laboratořích. Pro forezní zkoumání, které by mělo vést až k identifikaci jedince, je důležitý pojem forezní analýza. Ta se zabývá zkoumáním různých materiálů pro soudní nebo právní účely. Výsledky analýz bývají uznávány jako důkazní prostředek a často jsou hlavním důkazem pro objasnění kriminálních činů (Rowe, 2001). Předmětem forezní analýzy je také trichologický materiál, jehož nálezy jsou na místě činu velmi frekventované. Je vhodný pro zkoumání především proto, že se při jeho odběru nepoužívají invazivní metody. Ve forezních laboratořích se nejprve provádí morfologická analýza, následně analýza DNA, která je však možná jen u některých vlasů nebo chlupů.

5.1 Morfologické zkoumání vlasu

Forezní analýza, jak už bylo řečeno, začíná morfologickým zkoumáním, které se provádí pomocí mikroskopických technik. Analýza vlasu pomáhá zjistit spojení mezi obviněným, obětí, místem činu a zbraní (Siegel, 2000). Morfologická analýza vlasu pomůže identifikovat zdroj vlasu, ale nelze z ní přesně určit věk ani pohlaví. Někdy lze pouze říci, zda je jedinec relativně mladý nebo starý. Určení pohlaví může být také jen orientační. Dlouhé a pěstěné vlasy mívají častěji ženy. Přesné určení pohlaví zajistí až analýza DNA (Deedrick, 2000).

5.1.1 Metodika zkoumání

Při analýze vlastností vlasového stvolu se nejčastěji používají metody mikroskopické.

Světelná mikroskopie je na začátku každé analýzy. Můžeme jí rozdělit na mikroskopii pomocí procházejícího a dopadajícího světla, polarizovaného světla a fluorescenční mikroskopii. Vlas může být pozorován suchý, ale pro zvýraznění vnitřních struktur musí být zalit médiem o stejném refrakčním indexu (bod lomu), jaký má vlas (např. voda – 1.330, xylen – 1,500, imersní olej – 1.515). Povrch kutikuly může být charakterizovaný kutikulárním indexem, který je podílem délky a průměru šupiny vlasového vlákna.

Pomocí klasického mikroskopu pozorujeme barvu, texturu, strukturu a vzhled vzorku při zvětšení pětkrát až padesátkrát. V některých případech získáme potřebné údaje pro porovnání vzorků již při tomto typu mikroskopie. Také se používá k přípravě vzorků pro srovnání vlasů.

Mikroskop využívající polarizované světlo je při zkoumání vlasu často využíván. Používáme zvětšení šedesátkrát až šestsetkrát. Je využíván k identifikaci a srovnávání vlasů, vláken a malých částic, které na nich ulpívají. Tímto mikroskopem se pozorují jemnější detaily vlasu, jako jsou pigment, dřeň a vzduchové vakuoly (Siegel, 2000).

Kromě těchto světelných mikroskopů se využívají ještě fluorescenční mikroskop, skenovací elektronový mikroskop a infračervený spektrofotometr.

Fluorescenční mikroskop se podobá optickému s tím rozdílem, že světlo musí projít dvěma filtry. Předměty obarvené fluorescenčním barvivem se v něm jeví jako zářící objekty na tmném pozadí. Některá barviva se vážou na specifické molekuly buněk, jako je DNA (Alberts, 1998).

Skenovací elektronový mikroskop zobrazuje malé struktury lépe než světelné mikroskopy, s jeho pomocí pozorujeme povrchovou strukturu vlasu. Vytváří trojrozměrné obrazy objektů s velkou hloubkou a ostrostí (Alberts, 1998). Pro porovnávání vzorků vlasů se nepoužívá. Může se použít v souvislosti s měřením vlasu (Siegel, 2000).

Infračervený spektrofotometr se využívá k zviditelnění částic přichycených na vlasech, jako doplněk k mikroskopii polarizovaným světlem, k fluorescenční a skenovací elektronové mikroskopii.

Při mikroskopování vlas pozorujeme nejdříve při menším zvětšení a sledujeme tvar, délku, barvu a kutikulu. Poté přiblížíme a díváme se po částicích ulpívajících na vlasu. Nakonec použijeme vhodné médium a pozorujeme pigmentové částice, vzduchové vakuoly, ovoidní tělíška, dřeň, povrch vnitřní kutikuly atd. Při srovnávání dvou vzorků je důležité rozhodnout, jestli jsou vlasy shodné ve všech detailech (Siegel, 2000). Charakteristiky, které na vlasech srovnáváme, jsou uvedeny v kapitole *5.1.4 Analýza lidského vlasu / chlupu*.

Kromě mikroskopických metod se k analýze využívají také pomocné chemické metody. Ty využívají působení kosmetických přípravků, nebo se zaměřují na látky uskladňující se ve vlasech z vnějšího nebo z vnitřního prostředí.

5.1.2 Určení druhové příslušnosti

Lidský vlas a zvířecí chlup mají stejnou makroskopickou stavbu, i stavbu mikroskopickou, ale vzhled jednotlivých částí je odlišný. Tyto rozdíly jsou dobrým vodítkem pro odlišení lidského a zvířecího trichologického materiálu (viz Tab. 1).

Tab. 1: Rozlišovací znaky lidského a zvířecího chlupu (převzato a upraveno z Fetter, 1967)

ZNAK	LIDSKÝ VLAS	ZVÍŘECÍ CHLUP
Průměr	50 - 100 μm, vřetenovitý tvar u chloupků, většinou válec, po celé délce stejně silný	velká variabilita, síla není po celé délce stejná
Kutikula	většinou šupinovitá	více možností, někdy podobná lidské
Kůra	tvoří hlavní část, obsahuje pigment - difúzní nebo v zrnkách	většinou tenká, zatlačená dření, odlišná od kůry lidského vlasu
Dřeň - stavba	souvislá v průběhu celého vlasu, přerušovaná, nebo tvoří ostrůvky, někdy chybí	většinou po celé délce, velká variabilita ve stavbě, málokdy chybí, nejdůležitější identifikační znak
Dřeň - průměr	maximálně 1/3 průměru vlasu, vousu, chlupu	různý průměr, většinou zabírá největší část průměru chlupu
Špička	obroušená, ustřižená nebo roztřepená, pouze u novorozenců a nově vyrůstajících vlasů špičatá	téměř vždy špičatá, u některých roztřepená, abradovaná
Barva	stejná po celé délce (kromě barvených vlasů)	během délky se může i několikrát změnit, i jiné odstíny barev než u člověka

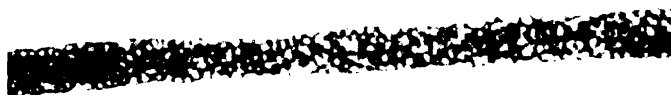
5.1.3 Analýza živočišného chlupu

Při identifikaci chlupu zvířete se analyzuje příčný průřez chlupem, typ kutikulárních šupin, struktura dřeně a také charakter pigmentace kůry. Při identifikaci kožešiny se navíc analyzuje vzhled povrchu kůže, tvar horní části folikulu a počet chlupů vyrůstajících z jednoho folikulu (Blažej et al., 1989). Analýza zvířecích chlupů se provádí na základě srovnání s chlupy vyobrazenými v atlasech (Debrot et al., 2000; Blažej et al., 1989), zvířecí chlupy jsou poté systematicky zařazovány (Wilson, Reeder, 2005).

Živočišný trichologický materiál může být vyšetřován v souvislosti se seznamem CITES a možným obchodem s ohroženými druhy zvířat. CITES je oficiálně používaná zkratka pro *Úmluvu o mezinárodním obchodu s ohroženými druhy volně žijících živočichů a planě rostoucích rostlin*. Účelem úmluvy je kontrola a regulace mezinárodního obchodu s vybranými ohroženými druhy (www.cites.org). Druhy CITES jsou rozděleny do tří skupin, na základě ohrožení. První skupina obsahuje druhy, které jsou bezprostředně ohroženy vyhoubením. Druhá skupina zahrnuje druhy, které by mohly být ohroženy vyhoubením, pokud by obchod s nimi nebyl přísně regulován. Ve třetí skupině jsou zapsány druhy, které jsou ohroženy mezinárodním obchodem pouze v určitých zemích a jsou chráněny na návrh těchto zemí. V praxi CITES funguje tak, že druhy chráněné úmluvou nemohou být převáženy přes hranice bez speciálního povolení, které vydávají výkonné orgány země vývozu i dovozu. V České republice je výkonným orgánem CITES Ministerstvo životního prostředí (www.ochranaprirody.cz).

Analýzy trichologického materiálu tedy mohou vést k odhalení obchodu s ohroženými druhy tím, že pomůže tyto druhy určit.

Obr. 7: Mikrofotografie chlupu tuleně (převzato z Deedrick, Koch, 2004)



5.1.4 Analýza lidského chlupu / vlasu

Morfologické vlastnosti lidských vlasů, které se analyzují, jsou barva, struktura a vzhled vlasu. Tato analýza se provádí pomocí mikroskopu. Před vlastní analýzou musí být nejprve určena část těla, ze které vlas, či jiný chlup pochází a srovnávání musí být provedeno s chlupem ze stejné části těla (Siegel et al., 2000). Nejvíce charakteristických znaků projevují vlasy a pubické ochlupení (Deedrick, Koch, 2004). Mikroskopické částice, které se mohou na povrchu vlasu nacházet, bývají také použity jako důkaz, proto je třeba je uschovat k případné analýze (Deedrick, 2000). Posouzení morfologických znaků je na vědeckém pracovníkovi, jeho zkušenostech a schopnostech. Při analýze vlasu se hodnotí následující charakteristiky.

Analýza barvy vlasu: (Siegel et al., 2000)

1. Odstín barvy (bezbarvý, blond, rutilní, kaštanově hnědý, zlatohnědý, světlehnědý, černý)
2. Hustota pigmentu (bez pigmentu, málo, středně, hodně pigmentu, neprůhledný pigment)
3. Rozložení pigmentu (rovnoměrné, jednostranné, periferní, nahodilé, centrální, pásové, kutikulární pigment)
4. Nahromadění pigmentu (v pruzích, v shlucích, různorodé)
5. Rozměr nahromadění pigmentu (velké, střední, malé)
6. Tvar pigmentových zrn (kulatý, oválný, podlouhlý)
7. Velikost pigmentových zrn (velká, střední, malá)
8. Chemické úpravy (obarvený, odbarvený, jiné)

Analýza barvy je nejužitečnější charakteristika pro srovnání.

Analýza struktury vlasu: (Siegel et al., 2000)

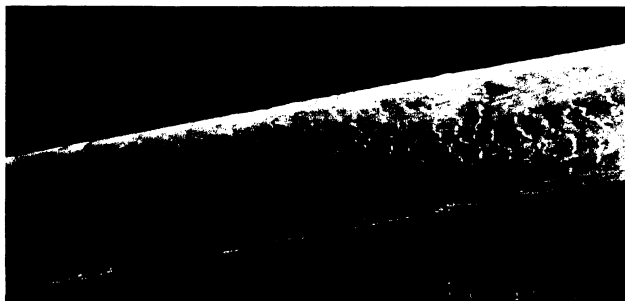
1. Délka vlasu
2. Šířka vlasového stvolu
3. Zakřivení
4. Typ vlasu (rovný, zvlněný, vlnitý, kudrnatý, zkroucený, spirálovitý)
5. Tvar průřezu vlasu (kulatý, oválný, trojhranný, ledvinovitý, hruškovitý)
6. Úprava vlasů (natočené, zvlněné, roztřepené, deformované)
7. Tloušťka kutikuly (tenká, střední, tlustá)
8. Vzhled vnější vrstvy kutikuly (velmi hladká, hladká, vroubkovaná, rozpraskaná)
9. Vzhled vnitřní vrstvy kutikuly (zřetelná, velmi hladká, rozpraskaná, nezřetelná)

10. Struktura kůry (hrubá, homogenní)
11. Ovoidní tělíska (velikost, tvar, barva, rozložení, množství)
12. Vzduchové vakuoly (velikost, tvar, rozložení, množství)
13. Dřeň (souvislá, přerušovaná, ostrůvkovitá, nepřítomna, neprůsvitná, průsvitná, relativně široká, neuspořádaná, vzorovaná)

Další ukazatele: (Siegel et al., 2000)

1. Kořen (telogenní, katagenní, anagenní, epiteliální vak, s fragmenty vlasových pochev, nekrotické změny)
2. Chybějící kořen (ustříhnutý, zlomený, rozložený, rozdrcený)
3. Distální konec (zúžený, zaoblený, abradovaný, přímý, seříznutý v úhlu, roztřepený, prasklý, rozmělněný, zlomený, ustříhnutý, spálený)
4. Úprava vlasu (narovnání, zvlnění, nakudrnacení)
5. Artefakty (vši, plísně, houby, lupy, epitelie, krev)
6. Abnormality (např. Pili annulati, Trichoschisis, Monilethrix, Trichorrhesis nodosa, Trichorrhesis invaginati, Pili torti, Trichonodosis)

Obr. 8: Mikrofotografie kutikuly vlasového stvolu (převzato z Deedrick, Koch, 2004)



Obr. 9: Mikrofotografie ohořelého vlasu (převzato z Deedrick, Koch, 2004)



Obr. 10: Mikrofotografie vlasu s Trichorrhexis nodosa (www.haarerkrankungen.de)



V souvislosti s nálezem vlasu musíme uvažovat také typ přenosu vlasu. Pokud je vlas přenesen z hlavy jedné osoby na oděv osoby druhé, jedná se o primární transfer. V případě že je na osobu přenesen již delší dobu vypadlý vlas, jedná se o transfer sekundární (Deedrick, 2000).

Pokud při srovnání vykazuje vyšetřovaný vlas stejné mikroskopické charakteristiky jako vlas odebraný určité osobě, mohl by z této osoby pocházet. V případě že jsou mezi vyšetřovaným a srovnávacím vlasem nalezeny rozdíly, nemůžeme vyšetřovaný vlas jednoznačně přiřadit. Různí lidé mají většinou různé charakteristiky vlasu, tyto jednotlivé charakteristiky se mohou měnit působením času a různých úprav, proto je třeba odebírat vlasy pro srovnání co nejdříve po spáchání trestného činu (Deedrick, 2000).

Vlasy bývají většinou identifikovány na základě mikroskopické analýzy, existují ale také další možnosti identifikace. Možnost odlišit vlasy jednotlivců může vzniknout na základě určení obsahu nikotinu, který absorbují z prostředí. Další možností identifikace je určování stopových prvků ve vlasech. Množství stopových prvků ve vlasech přibývá z metabolismu, kosmetických přípravků a z prostředí. Množství stopových prvků se liší podle oblasti těla, od kořínku po koneček, s průměrem vlasu a podle fáze vlasového cyklu. Proto tato metoda není k porovnání vlasů příliš vhodná. Největší oblast zkoumání v rámci chemické analýzy je určování obsahu drog ve vlasu. Z vlasu se dají chemickými metodami zjistit opiáty, barbituráty, kodein, kokain atd. Určení obsahu drogy ve vlasu může také sloužit při porovnávání vzorků vlasů (Siegel, 2000). Přítomnost drog ve vlasech je doprovázena také morfologickými změnami, které vznikají snahou o dekontaminaci (Stout et al., 2007). Tyto změny mohou být také vodítkem při srovnávání dvou vzorků vlasů. Relativně nové využití analýzy vlasu je k zjišťování obsahu nedovolených látek (doping) ve vlasech sportovců (Gambelunghe et al., 2007). Výhodou chemické analýzy vlasů je, že dovolují vrátit se v čase o mnoho měsíců zpět a pomocí segmentu

vlasu určit, která droga byla užívána a také jak dlouhá je doba abstinence (Pichini et al., 2000 cit. in Gambelunghe et al., 2005).

Závěry, které můžeme vyvodit z porovnávání vlasů:

1. Pozitivní výsledek – analyzované vlasy jsou shodné se známým vzorkem
2. Neprůkazný výsledek – není zřejmé, zda analyzovaný a známý vzorek mají stejný původ
3. Negativní výsledek – analyzované vlasy nejsou shodné se známým vzorkem
4. Silně negativní výsledek – analyzované vlasy by nikdy nemohly patřit stejné osobě jako známý vzorek

Největší část srovnávaných vzorků vykazuje normálně pozitivní nebo negativní výsledek (Siegel et al., 2000).

5.2 Forezní využití DNA

Analýza DNA je dynamicky se rozvíjející forezní metodou, která slouží k individuální identifikaci jedince. Rozbor DNA pro přesné určení totožnosti vynalezl v roce 1984 britský genetik Alec Jeffreys. Poprvé však byla tato metoda použita pro vyšetřování vraždy o dva roky později (Straus a kol., 2004). V současnosti je analýza DNA hojně využívána k identifikaci osob v nejrůznějších oblastech kriminalistiky.

Pro shromažďování DNA profilů jsou po celém světě vytvořeny databáze DNA. V České republice existuje od roku 2002 *Národní databáze DNA*, která shromažďuje vzorky získané na místech dosud neobjasněných trestných činů, dále vzorky osob, které byly odsouzeny pro spáchání závažných trestných činů, nebo byly pro tyto trestné činy stíhány. V databázi jsou rovněž uloženy genetické profily osob obviněných ze spáchání trestného činu a nalezených osob, po kterých bylo vyhlášeno pátrání, v tomto případě pouze pokud nejsou způsobilí k právním úkonům. Národní databáze DNA obsahuje také genetické profily mrtvol, kosterních nálezů a zbytků lidských těl neznámé totožnosti (Folda, 2007).

DNA (deoxyribonukleová kyselina) je nositelkou genetické informace, která je uložena v jádře a v mitochondriích. Molekula DNA je tvořena dvěma polynukleotidovými vlákny, která se skládají ze čtyř typů nukleotidů. Tato vlákna jsou navzájem spojena vodíkovými můstky a vytváří šroubovici DNA.

Pro forezní účely můžeme z trichologického materiálu získat dva druhy DNA, jadernou DNA (nuDNA) a DNA mitochondriální (mtDNA). Pro specifickou identifikaci je výhodnější

analýza nukleární DNA, protože neexistují dva lidé s naprosto shodnou nukleární DNA, vyloučíme-li jednovaječná dvojčata.

Každá část vlasu obsahuje jiné množství DNA. Velké rozdíly v obsahu DNA se projevují mezi kořenem a distální částí, především vytrženého vlasu. Rozdíl v obsahu DNA je také pozorovatelný mezi vlasem vypadlým a vytrženým. Zaznamenáváme také intraindividuální a interindividuální rozdíly v obsahu DNA ve vlasu (Andréasson et al., 2006). V neposlední řadě se množstvím DNA liší vlasy z různých fází vlasového cyklu (McNevin, 2005).

Pozitivní identifikace jedince je možná na základě typizačních systémů založených na molekulární analýze polymorfismů DNA. Analýzou sekvencí vykazujících vysoký polymorfismus získáme molekulární otisk, který je pro jedince unikátní, ať je jako zdroj DNA použito jakýchkoli buněk (Relichová, 2000).

5.2.1 Jaderná DNA

Analýza jaderné DNA je neúčinnějším nástrojem forenzních vědců, protože slouží k specifické identifikaci jedince, avšak odběr nuDNA z trichologického materiálu má svá úskalí.

Nejčastějším typem vlasu, který lze nalézt při vyšetřování, je samostatně vypadlý vlas z telogenní fáze (Pfeiffer, 1999). Získání jaderné DNA tohoto typu vlasu je méně pravděpodobné, než získání jaderné DNA z vlasu ve fázi anagenní (McNevin, 2005). Anagenní vlasy se však při vyšetřování nachází jen zřídka. Je obecně známo, že v průběhu vývoje vlasového stvolu jádra buněk, ve kterých je uložena nuDNA, degradují a to především působením keratinizace. Můžeme říci, že čím více je vlas keratinizovaný, tedy čím více se blíží konci vlasového cyklu, tím méně nuDNA v něm nacházíme. Jádra ani mitochondrie nenacházíme v částech vlasu, kde je plně formovaná kutikula (Linch, 2009). Jadernou DNA můžeme z telogenního vlasu získat, pokud byl násilně vytržen. V takových případech na kořeni vlasu zůstávají přichyceny části tkáně. Množství tkáně ulpívající na kořeni rozhoduje o tom, jestli se bude analyzovat nuDNA nebo mtDNA. O způsobu analýzy také rozhoduje typ tkáně, která je na kořeni zachycena. Pro analýzu nukleární DNA je vhodná pouze tkáň, která má původ v horní vnější vrstvě kořene a ve vrstvě dermální, a to protože těchto vrstev se nedotýká keratinizace probíhající během katagenní fáze (Linch, 2008).

Z telogenních vlasů se dá získat jen malé množství nuDNA, toto množství se liší od člověka k člověku. Kompletní STR-profil (viz kap. 5.2.3 *Analýza DNA*) lze podle Gill et al. (2000) získat už z množství 100 pg DNA. Takové množství DNA je obsaženo v jádrech přibližně 18 diploidních buněk. Podle novější studie Opel et al. (2008) musí být minimální

množství nuDNA pro stanovení alespoň částečného profilu větší než 60 pg a pro plnohodnotný, specifický profil je nutné zajistit množství větší než 500 pg.

V případě nálezu telogenních vlasů bez přichycených tkání bývá většinou používána analýza mtDNA, protože ve většině telogenních vlasů je jen nepatrné množství nuDNA.

Při klasickém mikroskopickém prozkoumání vlasu nelze odlišit, zda vlas obsahuje dostatečné množství nuDNA, jestli je tedy vhodný pro analýzu nuDNA. Obarvením pomocí DAPI (4'6-diamidino-2-phenilindol) lze zviditelnit jádra, která následně můžeme pozorovat fluorescenčním mikroskopem a zjistit tak, jestli je jejich počet dostatečný pro nuDNA profilování, víme-li, že jedna diploidní buňka obsahuje přibližně 6 pg nuDNA (Bourguignon et al., 2008). Tento nový přístup přináší zefektivnění práce forezních vědců, protože profil vytvořený na základě analýzy nuDNA má větší výpovědní hodnotu než profilování pomocí mtDNA. Ne všechny telogenní vlasy mají dostatek nuDNA, proto význam analýzy mtDNA zůstává značný.

5.2.2 Mitochondriální DNA

Buňky mohou obsahovat stovky až tisíce mitochondrií, každá mitochondrie obsahuje několik kopií cirkulární mtDNA (Isenberg, Moore, 1999). Množství mitochondriální DNA obsažené ve vlasu se snižuje směrem k distální části vlasu (Andréasson, 2006).

Analýza mtDNA je v některých případech jediné řešení, které může podhalit identitu jedince. Vlasová vlákna, v nichž se nachází malé množství nebo žádná nuDNA, mohou obsahovat mtDNA v dostatečném množství (Andréasson, 2006). Analýza mtDNA má však svá úskalí, jako jsou maternální dědičnost nebo nepřesnosti identifikace vzniklé v důsledku heteroplazmie.

Lidská mitochondriální DNA je na rozdíl od nukleární DNA děděna pouze po matce, tento jev se nazývá maternální typ dědičnosti. To vytváří problém při identifikaci založené na analýze mtDNA, neboť příslušníky stejné maternální linie nelze rozlišit (Isenberg, Moore, 1999). Na druhou stranu může být maternální dědičnost výhodou při odhalování lidské minulosti v rámci archeologických výzkumů nebo při pátrání po nezvěstných osobách, protože jako referenční vzorek může být použita mtDNA jakékoliv maternálně příbuzné osoby (Isenberg, Moore, 1999).

Pokud se v jedinci vyskytuje více než jeden typ mitochondriálního genomu, nazývá se tento stav heteroplazmií. Dva typy mtDNA se mohou lišit v jednom či více nukleotidech. Můžeme pozorovat tři druhy heteroplazmie. Jedinec může mít více než jeden typ mtDNA v jedné tkáni. Jedinec může v jedné tkáni vykazovat jiný typ mtDNA než v tkáni druhé, či může

být v jednom typu tkáně heteroplazmický a ve druhém homoplazmický (tj. vykazuje shodnou sekvenci mtDNA ve všech buňkách). Při analýze mtDNA z vlasů se s heteroplazmií setkáváme často (Carracedo, 2000). Grzybowskiho studie (2000) také prokázala vysoký stupeň heterogenity mtDNA mezi různými tkáněmi stejné osoby a také uvnitř jedné tkáně. Při heteroplazmii se tedy mohou lišit dva vlasy jednoho jedince, což může působit překážku v identifikaci jedince (viz kap. 5.2.3 *Analýza DNA*).

5.2.3 Analýza DNA

Extrakce DNA z vlasu není snadnou metodou kvůli malému počtu molekul DNA a velkému množství keratinu, který je inhibitorem následující PCR reakce. Problém s množstvím keratinu se snažili vyřešit Martino et al. (2004), kteří použili laserový nůž k vyříznutí vlasové cibulky ze zbytku na keratin bohatého vlasu. Díky tomu bylo možné získat adekvátní množství DNA a provádět analýzu pomocí krátkých repetic.

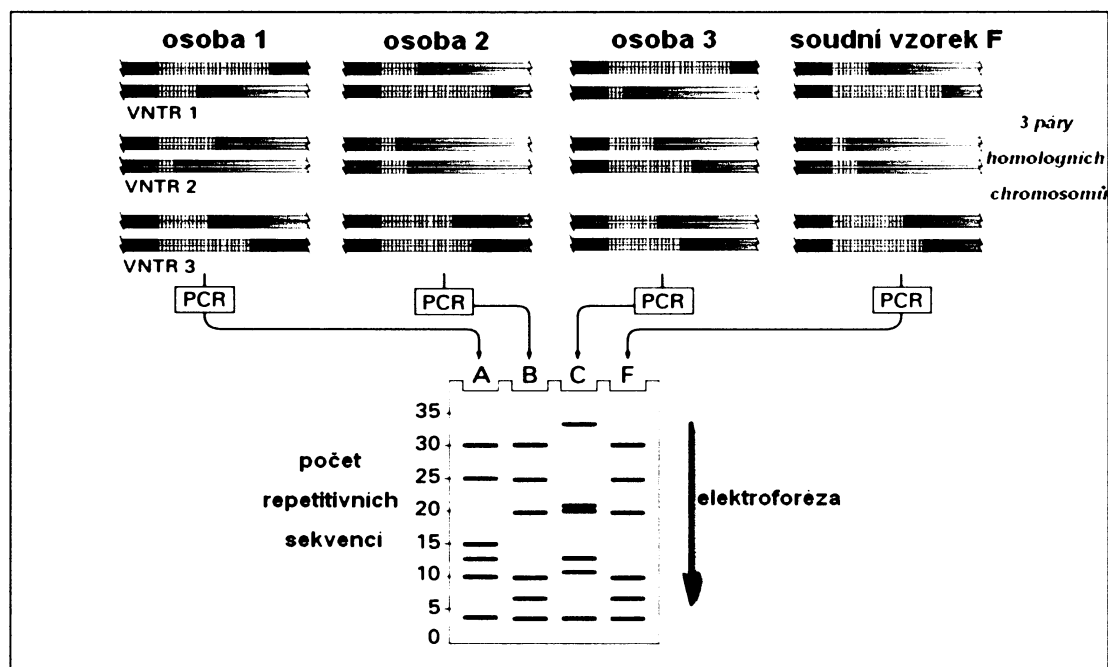
I z tak malého množství DNA, které získáváme z vlasů, jsme schopni vytvořit DNA-profil, především díky metodě PCR (polymerázová řetězová reakce). Ta se zakládá na využití DNA-polymerázy pro opakované kopírování templátové molekuly DNA. Tato metoda umožňuje rychlé a selektivní namnožení konkrétní, známé nukleotidové sekvence v jakékoliv DNA. Pro amplifikaci se obvykle používá 20–30 cyklů, přičemž v každém cyklu se množství molekul zdvojnásobí oproti cyklu předchozímu (Alberts et al., 1998). Metodou PCR lze získat množství DNA dostačující k analýze dokonce z jediné buňky (v takovém případě ale může být výsledek zkreslen chromozomovou mutací) a to především zvýšením počtu cyklů ze standardních 28 na 34 cyklů PCR. Zvýšení počtu cyklů PCR má velký potenciál především proto, že je možné vytvořit profil z čím dál menšího množství DNA (Kloosterman, Kersbergen, 2003).

Další překážka pro amplifikaci pomocí PCR je v případě černých vlasů (především u Japonců) inhibice DNA polymerázy eumelaninem, obsaženým právě v tomto typu vlasů. Naproti tomu feomelanin obsažený ve vlasech světlých a rutilních DNA polymerázu neinhubuje (McNevin et al., 2005).

Sekvence nuDNA, které využíváme pro analýzu, obsahují krátké repetice – VNTR sekvence (motiv dlouhý 10–70 bází) nebo STR sekvence (motiv dlouhý 1–8 bází). Tyto sekvence nacházíme v různých místech lidského genomu. Počet opakování v každé pozici se v populaci liší a kolísá mezi 4–40 repeticemi. Díky této variabilitě získá každý jedinec různě VNTR-sekvence od otce i od matky. Dvě nepříbuzné osoby obvykle nemají tyto úseky stejné. Na počtu repetic v amplifikovaném úseku závisí jeho poloha po elektroforéze (viz Obr. 11).

Z elektroforézy je možné určit, jestli některý z vzorků podezřelých osob obsahuje shodné fragmenty s nuDNA nalezenou na místě činu (Alberts et al., 1998; Stloukal a kol., 1999).

Obr. 11: Identifikace pomocí analýzy nuDNA (převzato a upraveno z Alberts et al., 1998)



Analýza mtDNA je oproti analýze nuDNA založena na výskytu polymorfních nekódujících oblastí, které vykazují velkou variabilitu mezi jedinci. Tyto oblasti se nazývají hypervariabilní oblast 1 (HV1) a hypervariabilní oblast 2 (HV2). Oblast HV 1 je dlouhá 342 bp, oblast HV2 268 bp. Pro forenzní analýzu se sekvenují obě tyto oblasti (Isenberg, Moore, 1999).

K analýze mtDNA se tedy používá sekvenace 610 bp mtDNA, které jsou porovnávány s první kompletně sekvenovanou mtDNA, která se nazývá Andersonova sekvence, nebo Cambridgeská referenční sekvence. Námi sekvenovaná mtDNA je poté zapisována ve formě odchylky od této referenční sekvence, např. 263 G znamená změnu v nukleotidu z původního adeninu na guanin (Anderson et al., 1981, cit. in Isenberg, Moore, 1999).

Analýza mtDNA zahrnuje primární vizuální analýzu, přípravu vzorku, extrakci DNA, PCR amplifikaci, DNA sekvenaci a analýzu dat.

Interpretace výsledků sekvenování není jednoduchá, kvůli výskytu heteroplazmie (viz kap. 5.2.2 Mitochondriální DNA).

Pokud se objeví heteroplazmie na stejné pozici ve vyšetřovaném i známém vzorku a všechny ostatní báze jsou stejné, význam shody je zesílen. Stupeň heteroplazmie nemusí být ve všech tkáních stejný, např. vlasy mohou obsahovat na jednom místě mitochondriálního genomu většinou cytosin, naproti tomu krev ze stejné osoby může na stejném místě mitochondriálního genomu obsahovat cytosin nebo thymin. Pokud tkáň vykazující heteroplazmii mají v ostatních pozicích běžné nukleotidy, nemůžeme vyloučit, že vzorky pocházejí ze stejného jedince nebo maternální linie (Isenberg, Moore, 1999).

Díky využití nových technologií DNA analýzy mohou být znovu otevřeny staré, odložené a nevyřešené případy a identifikována neznámá těla (Rowe, 2001).

6 Závěr

Trichologický materiál je ve forenzních vědách velmi využíván, protože jeho analýzou můžeme osoby identifikovat a pomocí mikroskopických či chemických metod určit, zda srovnávané vlasy patří stejnému jedinci, nebo shodu vyloučit. Je využitelný nejen v rámci identifikace lidí, ale je také vhodným materiálem pro určování zvířecích druhů. Nejpřesnějším způsobem identifikace je podle mého názoru identifikace pomocí jaderné DNA, kterou z vlasů také získáváme. Pokud máme srovnávací vzorek, pak jaderná DNA s určitostí identifikuje jedince.

Ačkoliv je identifikace pomocí DNA nejspolehlivější, je ovšem finančně nákladná. Morfologická analýza trichologického materiálu k ní může být rovnocennou a relativně nenákladnou variantou. Je to také způsob, jak od sebe v některých případech odlišit jednovaječná dvojčata, která mají naprosto shodnou DNA, ale jejichž vlasy se mohou lišit.

Analýza trichologického materiálu přispívá k identifikaci neznámých mrtvol a umožňuje objasnění dalších trestných činů. Pomáhá také při taxonomickém zařazení zvířecích chlupů v případech pytláctví, při řešení dopravních nehod zaviněných zvířaty a v neposlední řadě i při vyšetřování obchodu s ohroženými druhy zvířat.

Seznam zkratk a pojmů:

Bulbus – vlasová cibulka

Distální – vzdálenější od těla

DNA – deoxyribonukleová kyselina

Elektroforéza – soubor separačních metod, které využívají k dělení látek jejich odlišnou pohyblivost ve stejnosměrném elektrickém poli

Heteroplazmie – více typů mitochondriálního genomu v buňkách jednoho jedince

Homoplazmie – stejný typ mitochondriálního genomu ve všech buňkách

HV1 – hypervariabilní oblast mtDNA, dlouhá 342 párů bází

HV2 – hypervariabilní oblast mtDNA, dlouhá 268 párů bází

Keratin – vlasový protein

mtDNA – DNA obsažená v mitochondriích

nuDNA – DNA obsažená v jádře

Nukleotid – základní stavební jednotka DNA

Proximální – bližší k tělu

Rutilní – zrzavý

PCR – polymerázová řetězová reakce, metoda zmnožení úseku DNA

STR sekvence – 1–8 bází dlouhý, opakující se motiv v DNA

Trichologie – oblast vědy zabývající se vlasy a chlupy

Trichologický materiál – lidské a zvířecí chlupy

VNTR sekvence – 10-70 bází dlouhý, opakující se motiv v DNA

Seznam použité literatury a zdrojů:

- **Alberts, B., Bray, D., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walter, P.** 1998. *Základy buněčné biologie. Úvod do molekulární biologie*. 2. vydání. Ústí nad Labem: Espero publishing.
- **Anderson, S., Bankier, A. T., Barrell, B. G., de Bruijn, M. H. L., Coulson, A. R., Drouin, J., Eperon, I. C., Nierlich, D. P., Roe, B. A., Sanger, F., Schreier, P. H., Smith, A. J. H., Staden, R., and Young, I. G.** 1981. *Sequence and organization of the human mitochondrial genome*. Nature. 290: 457-465.
- **Andréasson, H., Nilsson, M., Budowle, B., Lundberg, H., Allen, M.** 2006. *Nuclear and mitochondrial DNA quantification of various forensic materials*. Forensic Science International. 164: 56-64.
- **Arenberger, P.** 2002. *Klinická trichologie. Nemoci vlasů a nové trendy v jejich léčbě*. Praha: Maxdorf.
- **Bartošová, L., Jorda, V., Štáva, Z.** 1982. *Choroby vlasů a ovlášené kůže*. Praha: Avicentrum / Zdravotnické nakladatelství.
- **Blažej, A., Galatík, A., Galatík, J., Krul, Z., Mládek, M.** 1989. *Atlas of Microscopic Structures of Fur Skins 1*. Prague: Publisher of Technical literature.
- **Bourguignon, L., Hoste, B., Boonen, T., Vits, K., Hubrecht, F.** 2008. *A fluorescent microscopy screening test for efficient STR typing of telogen hair roots*. Forensic Science International: Genetics. 3: 27-31.
- **Camacho, F. M., Randal, V. A., Price, V. H.** 2000. *Hair and its disorders. Biology, Pathology and Management*. London: Martin Dunitz.
- **Carracedo, A., Bär, W., Lincoln, P., Mayr, W., Morling, N., Olaisen, B., Schneider, P., Budowle, B., Brinkmann, B., Gill, P., Holland, M., Tully, G., Wilson, M.** 2000. *DNA Commission of the International Society for Forensic Genetics: guidelines for mitochondrial DNA typing*. Forensic Science International. 110: 79-85.
- **Čihák, R.**, 1997. *Anatomie 3*. Praha: Grada Publishing, spol. s.r.o.
- **Debrot, S., Fivaz, G., Mermod, C., Weber, J. - M.** 2000. *Atlas des poils de mammifères d'Europe*. Institut de Zoologie Université de Neuchâtel
- **Deedrick, W. D.** 2000. *Hairs, Fibers, Crime and Evidence-Part 1*. Forensic science communications. Vol. 2 No. 3 [online].

- **Deedrick, W. D.** 2000. *Hairs, Fibers, Crime and Evidence-Part 3: Crime and Evidence*. Forensic science communications. Vol. 2 No. 3 [online].
- **Deedrick, W. D., Koch, L. S.** 2004. *Microscopy of hair part 1: A practical guide and manual for human hairs*. Forensic science communications. Vol. 6. No. 1 [online].
- **Deedrick, W. D., Koch, L. S.** 2004. *Microscopy of hair part 2: A practical guide and manual for animals hairs*. Forensic science communications. Vol. 6. No. 3 [online].
- **Fetter, V., Prokopec, M., Suchý, J., Titlbachová, S.** 1967. *Antropologie*. Praha: Academia.
- **Fox, S., I.**, 1991. *Perspectives on Human Biology*. Dubuque: Wm. C. Brown Publishers.
- **Gaisler, J., Zima, J.** 2007. *Zoologie obratlovců*. 2. přeprac. vydání. Praha: Academia.
- **Gambelunghe, C., Rossi, Ri., Ferranti, Ch., Rossi, Ru., Bacci, M.** 2005. *Hair anylysis by GC/MS/MS to verify abuse of drugs*. Journal of applied toxicology. 25: 205-211.
- **Gambelunghe, C., Somnavilla, M., Ferranti, C., Rossi, R., Aroni, K., Manes, N., Bacci, M.** 2007. *Analysis of anabolic steroids in hair by GC/MS/MS*. Biomedical Chromatography. 21: 369-375.
- **Gill, P., Whitaker, J., Flaxman, C., Brown, N., Buckleton, J.** 2000. *An investigation of the rigor of interpretation rules for STRs derived from less than 100 pg of DNA*. Forensic Science International. 112: 17-40.
- **Grzybowski, T.** 2000. *Extremely high levels of human mitochondrial DNA heteroplasmy in single hair roots*. Electrophoresis 2000. 21: 548-553.
- **Grollman, S.** 1978. *The human body. Its Structure & Physiology*. 4. edition. New York: Macmillan publishing Co. Inc.
- **Gworys, B., Domagala Z.** 2003. *The typology of the human fetal lanugo on the thorax*. Annals of anatomy. 185: 383-386.
- **Chrobáková, E., Křehla, L., Lavičková, M., Léblová, A., Pfliegerová, E.** 1999. *Malá ilustrovaná encyklopedie*. Praha. Redakce Encyklopedický dům, spol. s.r.o.
- **Isenberg, A. R., Moore, J. M.**, 1999. *Mitochondrial DNA Analysis at the FBI Laboratory*. Forensic science communications. Vol. 1. No. 2 [online].

- **Klementa, J., Machová, J., Malá, H.** 1981. *Somatologie a antropologie*. Praha: Státní pedagogické nakladatelství.
- **Kloosterman, A. D., Kersbergen, P.** 2003. *Efficacy and limits of genotyping low copy number DNA samples by multiplex PCR of STR loci*. International Congress Series. 1239: 795-798.
- **Linch, Ch.** 2008. *The ultrastructure of tissue attached to telogen hair roots*. Journal of Forensic Science. Vol. 53. No. 6: 1363-1366.
- **Linch, Ch.** 2009. *Degradation of nuclei and mitochondria in human hairs*. Journal of Forensic Science. Vol. 54. No. 2: 1-4.
- **Martino, D. D., Giuffrè, G., Staiti, N., Simone, A., Todaro, P., Saravo, L.** 2004. *Laser microdissection and DNA typing of cells from single hair follicles*. Forensic Science International. 146: 155-157.
- **McElwee, K. J., Sinclair, R.** 2008. *Hair physiology and its disorders*. Elsevier-Drug discovery today: Disease mechanisms. Vol. 5. No. 2: 1-9.
- **McNevin, D., Wilson-Wild, L., Robertson, J., Kyd, J., Lennard, Ch.** 2005. *Short tandem repeat (STR) genotyping of keratinised hair. Part 1. Review of current status and knowledge gaps*. Forensic Science International. 153: 237–246.
- **Musil, J., Konrád, Z., Suchánek, J.** 2004. *Kriminalistika*. 2. přepracované vydání. Praha: C. H. Beck.
- **Opel, K. L., Fleishaker, E. L., Nicklas, J. A., Buel, E., McCord, B. R.** 2008. *Evaluation and Quantification of Nuclear DNA from Human Telogen Hairs*. Journal of Forensic science. Vol. 53. No. 4: 853-857.
- **Pfeiffer, H., Hühne, J., Ortmann, C., Waterkamp, K., Birnkmann, B.** 1999. *Mitochondrial DNA typing from human axillary, pubic and head hair shafts – success rates and sequence comparisons*. International Journal of Legal Medicine. 112: 287-290.
- **Pichini, S., Zuccaro, P., Pellegrini, M., Lopez, A., Pacifici, R.** 2000. *L'analisi delle sostanze d'abuso nella matrice cheratinica*. Ann. 1st Super Sanita. 36: 17-27.
- **Protivínský, M., Klvaňa, K.** 2007. *Základy kriminalistiky*. 2. vydání. Praha: Armex Publishing s.r.o.

- **Relichová, J.** 2000. *Panoráma biologické a sociokulturní antropologie 2*. Bmo: Nakladatelství a vydavatelství Nauma.
- **Robbins, C. R.** 1988. *Chemical and Physical Behavior of Human Hair*. New York: Springer-Verlag New York Inc.
- **Roček, Z.** 2002. *Historie obratlovců. Evoluce, fylogeneze, systém*. 1. vydání. Praha: Academia.
- **Rowe, W.** 2001. *Founding Editorial – Forensics and The Scientific World*. The Scientific World. 1: 605-608.
- **Seeley, R. R., Stephens, D. T., Tate, P.** 2007. *Essentials of anatomy and physiology*. 6th edition. New York: McGraw-Hill.
- **Schneider, M. R., Schmidt-Ullrich, R., Paus, R.** 2009. *The hair follicle as a dynamic miniorgan*. Current biology 19: 132-142.
- **Siegel, J. A., Saukko, P. J., Knupfer, G. C.,** 2000. *Encyclopedia of forensic sciences*. [online].
- **Stout, P. R., Ropero-Miller, J. D., Baylor, M. R., Mitchell, J. M.** 2007. *Morphological changes in human head hair subjected to various drug testing decontamination strategies*. Forensic Science international. 172: 164-170.
- **Straus, J. a kolektiv.** 2004. *Kriminalistika, kriminalistická technika (pro kurz kriminalistických expertů)*. Praha: Vydavatelství Policejní akademie ČR.
- **Stloukal, M., Dobisíková, M., Kuželka, V., Stránská, P., Velemínský, P., Vyhnanek, L., Zvára, K.** 1999. *Antropologie. Příručka pro studium kostry*. Praha: Národní muzeum.
- **Suchánek, J.** 2005. *Kriminalistické stopy obsahující informaci o vnitřní stavbě (struktuře) objektu*. Praha: Vydavatelství Policejní akademie ČR.
- **Valkovič, V.** 1988. *Human hair. Volume I: Fundamentals and Methods for Measurement of Elemental Composition*. Boca Raton: CRC Press Inc.
- **Valkovič, V.** 1988. *Human hair. Volume II: Trace – Element levels*. Boca Raton: CRC Press Inc.
- **Wilson, D. E., Reeder, D. M.** 2005. *Mammal species of the world – A taxonomic and geographic reference*. Baltimore: The Johnsons Hopkins University Press.

Internetové zdroje:

<http://www.policie.cz/clanek/prirodovedne-zkoumani-892081.aspx?q=Y2hudW09Mg%3d%3d>
(cit. 24.2.2009)

<http://www.uouu.cz/index.php?l=cz&m=left&mid=12:01:01:02&u1=&u2=&t> (Folda, J. 2007, cit. 14.4.2009)

<http://www.cites.org/eng/disc/what.shtml> (cit. 17.6.2009)

<http://www.ochranaprirody.cz/index.php?cmd=page&id=1349> (cit. 17.6.2009)

<http://www.haarerkrankungen.de/therapie/haarschaftstrukturveraenderungen.htm> (cit. 8.7.2009)

http://www.geradts.com/ani/ij/vol_006_no_002/papers/paper001.html (cit. 17.7.2009)

<http://www.top-hair-loss-remedy.com/hair-structure.html> (cit. 17.7.2009)